RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali
Comunicazioni pervenute all'Accademia durante le ferie del 1913.
Estratto dal vol. XXII, serie 5ª, 2° sem., fasc. 5°. — Roma settembre 1913.

16

VISCOSITÀ E TENSIONE SUPERFICIALE

DI SOSPENSIONI E SOLUZIONI DI PROTEINE MUSCOLARI

SOTTO L'INFLUENZA DI ACIDI E DI ALCALI

NOTA

DEL CORRISP.

F. BOTTAZZI e del dott. E. D'AGOSTINO

15 FEB 29
LIBRARY

ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI
1913

16.

12 FEB 30
LIBRARY

Chimica fisica. — *Viscosità e tensione superficiale di sospensioni e soluzioni di proteine muscolari, sotto l'influenza di acidi e di alcali* (1). Nota del Corrisp. FILIPPO BOTTAZZI e del dott. E. D'AGOSTINO (2).

Le sospensioni, su cui abbiamo sperimentato, sono del materiale granulare (miosina), che si ottiene dal succo muscolare nel modo descritto da Bottazzi e Quagliariello (3). Questo materiale, agitato fortemente in acqua in presenza di palline di porcellana entro un apparecchio d'agitazione automatica, forma poi una sospensione sufficientemente stabile, specialmente se la si libera dei granuli più grossi per sedimentazione o per filtrazione attraverso lana di vetro o amianto in fili sottili.

Servendoci di viscosimetri e stalagmometri a capillare convenientemente ampio, abbiamo potuto fare molte determinazioni di *tempo di deflusso* e di *numero di gocce* delle dette sospensioni, sia pure che dopo avere aggiunto quantità note di acidi (cloridrico e lattico) e di alcali (KOH). La ragione per cui abbiamo scelto il detto materiale, è questa. Esso resulta di un colloide insolubile in acqua, ma che in presenza di acidi e di alcali, prima s'imbeve, oltre il grado d'imbibizione che già presenta, e poi mano mano si scioglie, tanto più quanto più concentrata è la soluzione acida

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di fisiologia di Napoli.

(2) Pervenuta all'Accademia il 23 agosto 1913.

(3) Questi Rendiconti (serie 5ª), vol. 22, pag. 52 (1913).

o alcalina. Durante l'azione dell'acido cloridrico e, più evidentemente, della KOH, successivamente i granuli sospesi si rigonfiano, il liquido soprastante al materiale granulare, dopo sedimentazione, da limpido che era, diventa sempre più opalescente, e lo strato di sedimento sempre più alto, mentre la soluzione diventa sempre più vischiosa, finchè, a certe concentrazioni del colloide e dell'alcali, essa si trasforma in una massa gelatinosa spessa e opaca. Noi possiamo, quindi, servendoci di questa miosina granulare, seguire le modificazioni di viscosità e di tensione superficiale che la sospensione in acqua pura subisce mentre che, sotto l'influenza degli acidi e degli alcali, il colloide, man mano imbevendosi e salificandosi (formazione di miosinato di potassio o di cloruro di miosina), passa allo stato di soluzione. Esperimenti simili di tensione superficiale uno di noi ha già fatto sulla sieroglobulina [1], che è pure un colloide insolubile in acqua; ma questi, di cui riferiamo i resultati, sono almeno altrettanto interessanti, specialmente per la natura e provenienza della proteina.

Come si vede nella tabella I, i sei esperimenti furono fatti con concentrazioni crescenti di KOH da 0,010 a 0,060 moli per litro, e durarono da un minimo di 70 a un massimo di 234 ore. Così grande durata degli esperimenti è necessaria per raggiungere il massimo di viscosità e oltrepassarlo, cioè osservare diminuzione della viscosità dopo l'aumento fino al massimo, perchè il processo di imbibizione e di soluzione della miosina, alla temperatura dell'ambiente di circa 20° C. e alle dette concentrazioni della KOH, è relativamente lento. Avendo usato sempre lo stesso viscosimetro, e gli esperimenti essendo stati fatti a temperatura costante, i valori del tempo di deflusso misurato possono considerarsi come esprimenti le variazioni di viscosità del liquido in ciascun caso.

Il resultato è lo stesso, in ogni esperimento: *aumento notevole della viscosità col tempo*, aumento che raggiunge valori altissimi quando la concentrazione della soluzione di KOH e la quantità di miosina sospesa sono assai grandi. Ma un altro fatto resulta evidente dagli esperimenti prolungati per molte ore (per es., dagli esperimenti *c*, *d*, *e*, ed *f*): *la viscosità, raggiunto un massimo, torna a diminuire.*

[1] Fil. Bottazzi, Rend. (serie 5ª), vol. 21, pag. 221 (1912).

dopo aver aggiunto quantità determinate crescenti di KOH.

TABELLA I.

(Tempo di deflusso dell'acqua per il viscosimetro = 39″).

(a) 0,010 mol. KOH per l.		(b) 0,012 mol. KOH per l.		(c) 0,0134 mol. KOH per l.		(d) 0,016 mol. KOH per l.		(e) 0,020 mol. KOH per l.		(f) 0,060 mol. KOH per l.	
Tempo decorso dalla preparaz. della sospensione	Tempo di deflusso osservato	Tempo decorso dalla preparaz. della sospensione	Tempo di deflusso osservato	Tempo decorso dalla preparaz. della sospensione	Tempo di deflusso osservato	Tempo decorso dalla preparaz. della sospensione	Tempo di deflusso osservato	Tempo decorso dalla preparaz. della sospensione	Tempo di deflusso osservato	Tempo decorso dalla preparaz. della sospensione	Tempo di deflusso osservato
3′30″	53,4″	1′ 0″	51,0″	2′ 0″	67″	1′45″	1′ 5,4″	1′15″	2′53,8″	1′45″	2′38,1″
5 30	53 6	2 39	52,6	9 0	1′29	3 50	1 15,4	5 30	19 0	5 10	3 47,2
7	53,2	4 18	53,4	11 30	1 35,8	5 55	1 24,3	29 0	1h40	9 45	4 48,4
8 30	53,8	6 5	54,3	14 0	1 43,2	10 40	1 44,9	2h21	1 24	15 35	5 44,6
29 30	56,2	7 45	54,8	16 30	1 52,5	13 50	2 1,7	3 51	47 23	22 0	6 26,6
31	56,3	25 40	59,3	19 45	2 0,7	16 55	2 17,8	4 45 30	37 27,3	30 0	7 0,2
35	56,3	46 30	1′ 0,2	23 0	2 11	20 25	2 37	5 26	31 22,4	37 30	7 17
1h15	59,4	1h27	1 12,3	26 15	2 22,7	24 3	2 58,8	5 28	26 44	45 15	7 22,1
1 55	1′ 1,1	16 10	1 23,8	30 0	2 33,6	30 28	3 38,7	6 39	25 46,6	67h45	1 19,5
3 7	1 2,4	17 32	1 24,7	34 0	2 50,6	35 30	4 13,5	24 38	8 40,2	69 45	1 19,4
3 56	1 2,0	18 17	1 23,4	38 15	3 1	40 45	4 51,5	24 49 30	8 25,1	89 15	1 18,3
70 53	1 12,5	90 44	1 25,5	42 30	3 12,1	46 13	5 29,8	25 1/2	7 57	138 45	1 6,9
73 14	1 12,5			47 0	3 26,7	52 45	6 11,6	28 31 30	5 4,8	145 40	1 3,3
				51 30	3 45,2	59 50	6 41,3	28 39 30	4 47,8	160 15	1 4,2
				57 0	4 0,9	1h10 15	7 56	29 26	4 31,7	162 15	1 4,2
				1h 2 30	4 19,8	1 20	9 7,7	30 46	3 57,6	234 38	5 6,4
				1 8 15	4 31,6	1 30	10 44,8	47 11	3 6,9		
				1 14 0	4 51,9	1 42 30	12 42,6	48 16	2 52,9		
				1 19 30	4 57,8	2 16 45	16 45	49 8	2 46,8		
				1 25 30	5 17	2 25	19 0	74 38	2 5,1		
				1 32 0	5 28,2	2 55	22 45				
				1 39 15	5 43,1	73 54	19 44				
				1 46 30	5 56,2	76 9	19 16,6				
				1 58 0	6 13,9	91 31	11 8				
				2 13 0	6 27,1	141 10	3 25,5				
				2 20 30	6 33,1	148 10	3 6,7				
				20 7	9 11	162 50	2 58,7				
				20 23 30	8 35	164 50	3 4,9				
				23 52 30	5 35,7	237 20	2 30,2				
				24 3	5 34,3						
				24 50	5 18,3						
				26 10	4 21,4						
				42 36	3 36,8						
				43 41	3 38,1						
				43 53	3 33,4						
				44 33	3 26 8						
				70 3	2 35,2						

2. — *Variazioni della viscosità di sospensioni di miosina granulare per aggiunte varie di acidi e di basi.*

TABELLA II.

(Tempo di deflusso dell'acqua = 39″).

Numero della sospensione	Moli aggiunte per litro di sospensione	Tempo di deflusso delle sospensioni, a cui è stato aggiunto KOH		Tempo di deflusso delle sospensioni, a cui è stato aggiunto HCl		Tempo di deflusso delle sospensioni, a cui è stato aggiunto acido lattico	
		osservazione dopo 46 ore	osservazione dopo 168 ore	osservazione dopo 46 ore	osservazione dopo 168 ore	osservazione dopo 46 ore	osservazione dopo 168 ore
I	0,00	40,8″	40,9″	43,4″	48,8″	43,0″	45,3″
II	0,01	2′34,5	1′36,5	1′ 1,1	1′14,9	46,9	49,9
III	0,02	7 30,5	3 15,1	4 1,6	8 3,8	51,7	55,4
IV	0,03	1 58,2	1 27,8	2 27,1	3 1,9	59,0	1′ 9,8
V.	0,04	1 32,2	1 12,5	1 32,8	1 45,9	1′ 8,9	1 36,8
VI	0,05	1 23,8	1 6,4	1 14	1 18,4	1 25,6	3 56.2
VII. . . .	0,06	1 13,8	59,2	1 7,1	1 10,7	1 45,8	6 41,6

Nella tabella II sono raccolti i dati numerici ottenuti in varii esperimenti, nei quali le determinazioni di tempo di deflusso furono fatte dopo 46 e dopo 168 ore, variando la concentrazione della KOH, dell'acido cloridrico e dell'acido lattico da 0,01 a 0,06 moli per litro di sospensione. Coi dati ottenuti furono costruite le curve della fig. 1. Queste dimostrano che, *coll'aumentare della concentrazione della* KOH *o dell'* HCl, *la viscosità prima raggiunge un massimo e poi diminuisce per tornare quasi ai valori iniziali.* Per l'acido lattico, però, abbiamo potuto tracciare solamente porzioni dei tratti ascendenti delle curve, senza raggiungere il massimo di viscosità con le concentrazioni adoperate e nei tempi sopra detti.

Non v'ha dubbio, dunque, che il rigonfiarsi dei granuli colloidali e il loro sciogliersi in parte, sotto l'influenza degli alcali e degli acidi, producono aumento della viscosità del liquido. Come era da aspettarsi, la KOH ha un potere notevolmente superiore a quello dell'acido cloridrico di aumen-

tare la viscosità e di determinare la successiva diminuzione di essa, a parità di durata dell'esperimento. Infatti, il massimo di viscosità raggiunto sotto l'azione dell'acido e quello raggiunto sotto l'azione della KOH hanno un valore poco differente: ma il primo è raggiunto in 168, e il secondo in sole 46 ore. Il potere dell'acido lattico, di aumentare la viscosità, risulta poi notevolmente minore di quello dell'acido cloridrico.

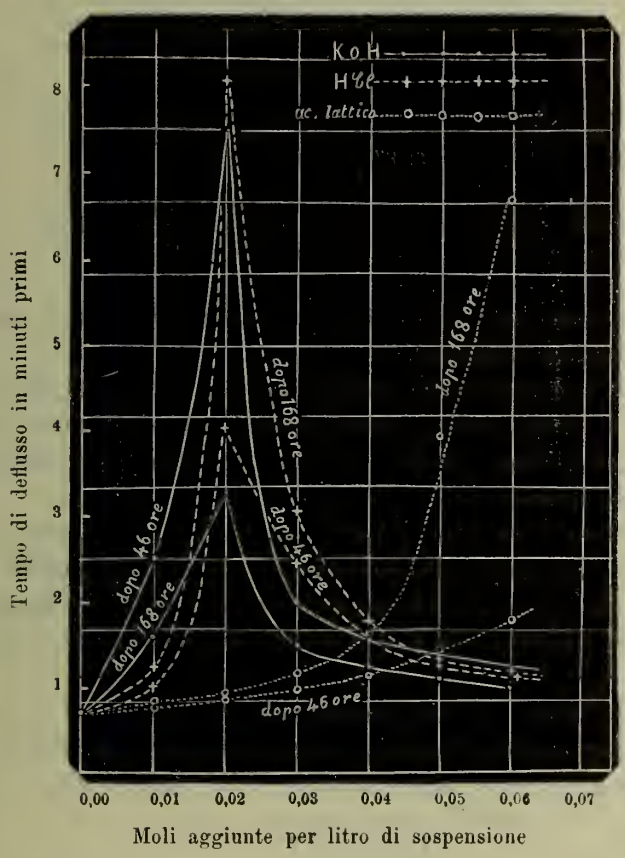

Fig. 1.

Per quanto riguarda la diminuzione della viscosità, crediamo che essa sia effetto della progressiva idrolisi che subisce la proteina coll'aumentare della concentrazione dell'acido o dell'alcali e col tempo, come negli esperimenti analoghi fatti da varii autori sopra soluzioni di sieralbumina e di altre proteine.

3. — *Variazioni della viscosità di sospensioni di miosina granulare, già aumentata per un'aggiunta di acido lattico, per un'aggiunta ulteriore di* $NaCl$ *e* NaH_2PO_4.

TABELLA III.

(Lo stesso viscosimetro).

Viscosità della sospensione originale	40,0″	Viscosità della sospens. dopo l'aggiunta di 0,208 moli per litro di acido lattico (misura eseguita 18 ½ ore dopo la preparazione)	2′3,0″-2′0,3″
Viscosità della sospens. dopo aver aggiunto 0,0167 moli di $NaCl$ per litro. . . .	39,8″	La stessa sospens. preced. dopo aggiunta di 0,0167 moli per litro $NaCl$	1′22,7″
Viscosità della sospens. dopo aver aggiunto 0,0167 moli di NaH_2PO_4 per litro . .	39,8″	La stessa sospens. preced. dopo aggiunta di 0,0167 moli per litro NaH_2PO_4	1′22,6″

(Tutte le aggiunte sono state fatte rimanendo invariata la concentrazione della sospensione originale).

Mentre il fosfato monosodico modifica appena la viscosità della sospensione originale, il cloruro sodico produce una notevole diminuzione della viscosità di una sospensione, la cui viscosità era stata già aumentata per aggiunta di acido lattico.

Questo resultato è conforme ad altri ottenuti da varii autori su altre proteine. Infatti, i sali neutri generalmente diminuiscono la viscosità di soluzioni colloidali già aumentata dall'azione di acidi o di basi, verosimilmente perchè deprimono l'imbibizione e la dissociazione della proteina salificata.

4. — *Variazioni della tensione superficiale di sospensioni di miosina granulare per aggiunte varie di acidi e di basi.* (La misura è stata eseguita 10 giorni dopo la preparazione delle sospensioni).

TABELLA IV.

(Numero di gocce di acqua dallo stalagmometro = 38,9).

Numero della sospensione	Moli aggiunte per litro di sospensione	Numero delle gocce delle sospensioni, a cui è stata aggiunta KOH	Numero delle gocce delle sospensioni, a cui è stato aggiunto HCl	Numero delle gocce delle sospensioni, a cui è stato aggiunto acido lattico
I. . . .	0,0000	39,25	39,45	39,30
II . . .	0,0083	45,20	41,00	40,05
III . . .	0,0167	51,15	48,55	41,00
IV . . .	0,0250	52,75	48,25	42,60
V . . .	0,0333	54,25	46,90	44,55
VI . . .	0,0416	56,90	46,75	47,20
VII. . .	0,0500	58,55	47,30	49,15

Nella tabella IV sono raccolti i dati riguardanti la tensione superficiale (numero di gocce cadute sempre dallo stesso stalagmometro alla stessa temperatura dell'ambiente di circa 20° C.) della sospensione di miosina granulare, prima e dopo avere ad essa aggiunto KOH, HCl o acido lattico in concentrazione crescente da 0,0083 a 0,0500 moli per litro. Con quei dati abbiamo costruito le curve della fig. 2.

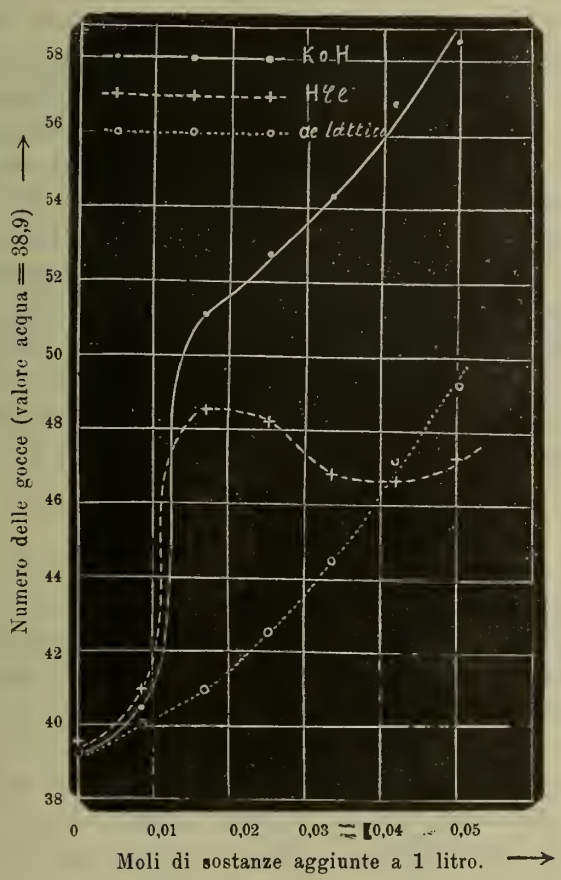

Fig. 2.

Avendo già sopra accennato alle modificazioni che i granuli di miosina, insolubili in acqua, subiscono sotto l'influenza degli acidi e della KOH, crediamo di poter interpretare nel seguente modo i resultati ottenuti:

La sospensione di miosina ha, come in generale ogni sospensione acquosa, una tensione superficiale poco differente da quella dell'acqua. Ma, *come la proteina si viene sciogliendo, essa abbassa la tensione superficiale del solvente.* A parità di concentrazione dell'HCl e della KOH, l'effetto che

questa produce è assai maggiore di quello che produce l'acido, perchè maggiore è il suo potere solvente. L'abbassamento della tensione superficiale si inizia piuttosto lentamente, e decorre da prima presso che egualmente sotto l'influenza dell'acido cloridrico e della KOH, poi procede velocemente, e quindi subisce, alla concentrazione di 0,02 moli per litro, un nuovo rallentamento, assai più cospicuo per l'acido che non per la base.

A che cosa siano dovute le inflessioni delle due curve, però, è difficile dire. Un minimo di tensione superficiale non fu raggiunto per la KOH. Rimane, dunque, novamente dimostrato che *le sostanze proteiche in soluzione abbassano notevolmente la tensione superficiale dell'acqua.*

Per quanto riguarda l'influenza dell'acido lattico, abbiamo voluto indagare che potere ha esso stesso di modificare la tensione superficiale dell'acqua, potere che può essere del tutto trascurato per l'HCl e la KOH. La seguente tabella V dimostra che *l'acido lattico abbassa la tensione superficiale dell'acqua.* Se si considera, però, che le concentrazioni, alle quali fu fatto agire sulla miosina (0,01 - 0,05 moli per litro), stanno tutte al di sotto della minore concentrazione (0,11 moli per litro) indicata in questa tabella, si deve ammettere che l'abbassamento della tensione superficiale della sospensione sotto l'influenza dell'acido lattico è dovuto principalmente al dissolversi (lento) della proteina, come negli altri casi.

Tabella V.

Moli di acido lattico per litro	Numero delle gocce
0,00	38,9
0,11	39,7
0,21	40.8
0,39	42,4
0,78	45,1
0,98	46,3
1,30	48,3
1,56	48,8
1,95	51,0
2,60	53,3
3,90	58,0
7,80	70,4

5. Quando si filtra il succo muscolare, dopo aver provocato l'agglutinazione del materiale granulare in esso originariamente sospeso, si ottiene un filtrato gialletto limpidissimo che, per quanto riguarda la sua costituzione

colloidale, può considerarsi come una soluzione di mioproteina [1]. Abbiamo voluto determinare la tensione superficiale di questo filtrato, sia puro, sia dopo averlo diluito con un volume eguale di soluzioni variamente concentrate di HCl e di KOH. I resultati ottenuti sono raccolti nella seguente tabella VI.

TABELLA VI.

(Numero delle gocce per $H_2O = 38,9$).

Moli di HCl aggiunte a 1 litro di soluzione		Numero delle gocce	Moli di KOH aggiunte a 1 litro di soluzione		Numero delle gocce
Soluz. limpida	0,00000	47,6	Soluz. limpida	0,00000	48,1
» limpida	0,00098	47,7	» limpida	0,00089	48,1
» un po' torbida. .	0,00396	50,0	» limpida	0,00412	48,0
» torbida	0,00785	50,3	» limpida	0,00834	47,9
» notevolmt.e torbida	0,0143	51,0	» limpida	0,0143	48,0
» » torbida	0,0500	53,1	Nella soluz. si è formato un precip.to cristallino	0,0500	48,2

Come si vede, la tensione superficiale del liquido è già notevolmente bassa, il che è dovuto così al fatto che il liquido contiene una proteina allo stato di perfetta soluzione, come anche al fatto che vi si trovano altre sostanze capaci di abbassare la tensione superficiale dell'acqua (acido lattico, ecc). La tensione superficiale non si modifica in modo degno di nota per l'aggiunta di KOH nella quantità variabile da 0,00089 a 0,0500 moli per litro; il liquido rimane sempre limpido. Per contro, non appena l'acido cloridrico raggiunge nel liquido la concentrazione di 0,00396 moli per litro, il liquido incomincia a intorbidarsi e la tensione superficiale di esso ad abbassarsi. Aumentando la concentrazione dell'acido fino a 0,0500 moli per litro, come più cospicuo diventa l'intorbidamento del liquido, così più s'abbassa la sua tensione superficiale. L'intorbidamento è dovuto a precipitazione della mioproteina, operata dall'acido. Se questo fosse stato aggiunto in quantità maggiore, la mioproteina precipitata si sarebbe di nuovo sciolta: ciò resulta da precedenti esperienze di Bottazzi e Quagliariello [2].

[1] Arch. intern. de physiol., vol. 12, pp 236, 289 e 409 (1912). Ved. anche: Filippo Bottazzi, Rendic. R. Accad. dei Lincei (serie 5a), vol. 21, pag. 493 (1912).

[2] Loc. cit.

Nel caso nostro, l'acido rimase al di sotto della concentrazione necessaria per ridisciogliere il precipitato di mioproteina. Come si spiega, dunque, l'abbassamento di tensione superficiale che produce l'acido cloridrico e che si manifesta insieme con la parziale precipitazione della mioproteina?

La spiegazione più verosimile ci sembra questa: che i due fenomeni siano solo concomitanti, non legati fra loro da nesso causale, e che l'acido cloridrico, più forte, metta in libertà sostanze capaci di abbassare notevolmente la tensione superficiale, anche se in piccolissima quantità, come per esempio qualche acido grasso, lo stesso acido lattico, ecc.